蝶と蛾 *Trans. lepid. Soc. Japan* **61** (4): 263–271, Dec 2010

日本産エゾスジグロシロチョウの北海道亜種と本州亜種の交配結果

黒田 哲[1]・北原 曜[2]

[1]063-0847 札幌市西区八軒7条西1-1-12
[2]396-0014 長野県伊那市狐島4224-1

Cross-breeding results between *Pieris napi nesis* from Hokkaido and *P. napi japonica* from Honshu (Lepidoptera, Pieridae)

Satoshi KURODA[1] and Hikaru KITAHARA[2]

[1]1-1-12 Hachiken-7-jyou, Nishiku, Sapporo, Hokkaido, 063-0847 Japan
[2]Kitsunejima 4224-1, Ina, Nagano, 396-0014 Japan

Abstract Cross-breeding experiments between *Pieris napi nesis* from Hokkaido and *P. napi japonica* from Honshu were carried out. Cage pairing between ssp. *nesis* and ssp. *japonica* was successful. Among F1, F2, F3 generations which were obtained, only females of the F1 generation lacked reproductive ability. By contrast, males of F1 and both sexes of F2, F3 generations possessed reproductive ability. These results show that the relationship between the two taxa is correctly established at subspecific level.

Key words *Pieris napi nesis*, *Pieris napi japonica*, crossing, backcross, half species.

1. はじめに

我が国におけるエゾスジグロシロチョウ *Pieris napi* は，形態や生態から北海道産を ssp. *nesis*，本州産を ssp. *japonica* と，2群の亜種に区分されてきた．ただし，山形県付近が ssp. *japonica* の北限とする見解(川副・若林，1976)があるなど，両亜種の分布境界についても，様々な見解があり議論が行われてきた．ところが近年，この両亜種について新川ほか(2003)は，ミトコンドリアDNA塩基配列解析により，2種のエゾスジグロシロチョウ系(*napi* 群)が含まれているとした．また，白水(2006)は，日本産 *napi* 群をエゾスジグロシロチョウ *Pieris dulcinea* とヤマトスジグロシロチョウ *Pieris nesis* に分類した．しかし，これらの分類では，双方の形態面での区別点や，生態面の相違等にはあまりふれておらず，分析結果から推測された生息域の，簡単な記述及び図示に留まっている．とりわけ分布境界については，北海道石狩低地付近とするなど，明確な記載を欠いている。これに対して，北海道内における両種の分布状況を明らかにするため，黒田(2008, 2010)は北海道内の産地間交配を行っているが，現段階では交配実験において，北海道から生殖的に隔離されているヤマトスジグロシロチョウ *Pieris nesis* は，発見されていない．

これまでに，形態の相違から亜種に分類されている2つの *napi* 群，すなわちエゾスジグロシロチョウの北海道亜種 ssp. *nesis*，と本州亜種 ssp. *japonica* の関係は，別種説や分布境界など不明な点が数多くある．双方が，同種あるいは別種かを判定するには，ミトコンドリアDNA塩基配列解析のみならず，双方の交配や戻し交配を行い，子孫の生殖能力の確認が必要不可欠である．

筆者らは，この2つの *napi* 群が同種か別種かを判定することを目的とし，北海道亜種 *Pieris napi nesis* と，本州以南の亜種である長野県産 *Pieris napi japonica* との交配を行った．その結果，F1及び戻し交配したF2，F3，F4を得ることに成功した．またその際，交配による生殖能力検定を行ない，両亜種について非常に興味深い関係があることなど，幾つかの重要な知見を得たので報告する．なお、両亜種の学名や和名，あるいは分布に諸説が提案されている（たとえば，松田，2009）が，ここでは便宜上，日本産 *napi* 群の北海道亜種をエゾスジ，本州以南の亜種（ここでは長野県産）をヤマトスジと呼ぶことにする．

2. 材料及び方法

交配に用いた個体は，エゾスジがおもに北海道日高町日高及び北見市常呂町日吉で採集した個体，ヤマトスジが長野県伊那市黒河内林道で採集した個体を用い，ともに♀より採卵し累代飼育したものである．これら飼育羽化させた個体を，エゾスジ♂とヤマトスジ♀，ヤマトスジ♂とエゾスジ♀の組合せで交配を行った．

交配はすべてケージペアリング法で行った．交配に使用したケージは直径30 cm × 長さ50 mの円筒形あるいは30 cm × 25 cm × 高さ30 cmの直方体で，この中にエゾスジ♂とヤマトスジ♀あるいはヤマトスジ♂とエゾスジ♀の組合せで入れて，自発的に求愛や交尾行動を行わせた．交配は，♂は3〜5個体，♀は1〜2個体程度とした．ケージの中で交尾が成立したカップルは速やかに隔離し，結合が解けた♀で採卵，飼育を行った．交尾確認の後，採卵に供した期間は，1〜2週間である．こうして得られたF1 ♂♀は，再びケージペアリング法で，F1同士の交配やエゾスジ，ヤマトスジとの戻し交配を行った．F1，F2，F3も同様に，交尾を確認したうえで母蝶の産卵を試み，生殖能力の有無を調べた．なお，産卵数や羽化個体数の合計が30以下はカウントしたが，これを超えた例では一部しかカウントしなかった為，産卵数や羽化個体数が30を超えた場合，本文中では多数，表においては>30と表示する．産卵・飼育に使った食草は，ネットがけで播種栽培した葉ダイコンや，株を植えて栽培したワサビダイコンを用いた．葉ダイコン，ワサビダイコンとも母蝶は支障なく産卵した．また幼虫も順調に生育し，羽化した成虫も充分な大きさになった．なお，同時に平行してエゾスジやヤマトスジの累代飼育を継続し，戻し交配に供した．

3. 結果と考察

(1) エゾスジとヤマトスジの交配 (Table 1, Figs 1–10)

エゾスジとヤマトスジのケージペアリングは以下の組合せで行った．なお，エゾスジは北海道日高町産 (以後，エゾスジ日高) と北見市産 (以降，エゾスジ北見) を用いている．

ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀: 18組.
エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀: 11組.

交配したヤマトスジ♂ × エゾスジ♀の組合せは18組である．内訳は，ヤマトスジ♂ × エゾスジ日高♀は夏型1組と春型3組の計4組，ヤマトスジ♂ × エゾスジ北見♀が14組である．

また逆の組合せで交配したエゾスジ♂ × ヤマトスジ♀の組合せは11組である．内訳は，エゾスジ日高♂ × ヤマトスジ♀は夏型1組と春型3組の計4組，エゾスジ北見♂ × ヤマトスジ♀が7組である．

エゾスジ，ヤマトスジのいずれもケージ中の♂は，自発的かつ積極的に♀に交尾行動を起こし，短時間で交尾が成立する場合が多かった．また交配した合計29組は，いずれも有精卵を多数産んだ．たとえば，ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀の組合せのうち，2組が産んだ60卵は，全卵孵化し，57個体が蛹化した．エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀の組合せのうち，2組が産んだ60卵もほぼ孵化したが，一部が病死したため蛹化したのは34個体であった．

以上のように，エゾスジとヤマトスジは，♂♀の組合せを入れ替えても容易にケージ中で交配し，またどの組合せでも，F1の孵化と幼虫の成育も順調であった．ただし生育経過は，エゾスジとヤマトスジの組合せの違いで若干の差があった．たとえば，2008年10月に行ったF1の，北海道札幌市における室内での成育経過は，ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀の組合せで，10月9日に産卵したもっとも成育の早い個体は，10月14日に孵化を確認した．その後は，10月24日蛹化，11月3日に夏型1♂4♀が羽化した．一方，これと同時に行ったエゾスジ♂ × ヤマトスジ♀の組合せでは，10月9日に産卵したもっとも成育の早い個体は，10月14日に孵化を確認し，その後，10月30日蛹化，11月13日に夏型4♂が羽化した．この例では，エゾスジ母蝶から生まれたF1のほうが，ヤマトスジ母蝶から生まれたF1よりも成長が10日早かった．エゾスジとヤマトスジの成育経過を比較しても，エゾスジがより早く成育する．たとえば，食草や温度，日照等，ほぼ同条件下でエゾスジとヤマトスジを，同時に2008年9月に札幌市で室内飼育した場合も，1週間〜10日程度，エゾスジ成虫の羽化が早かった．

以上，エゾスジとヤマトスジは，♂♀の組合せがどちらでも，ケージペアリングによる交配が可能で，
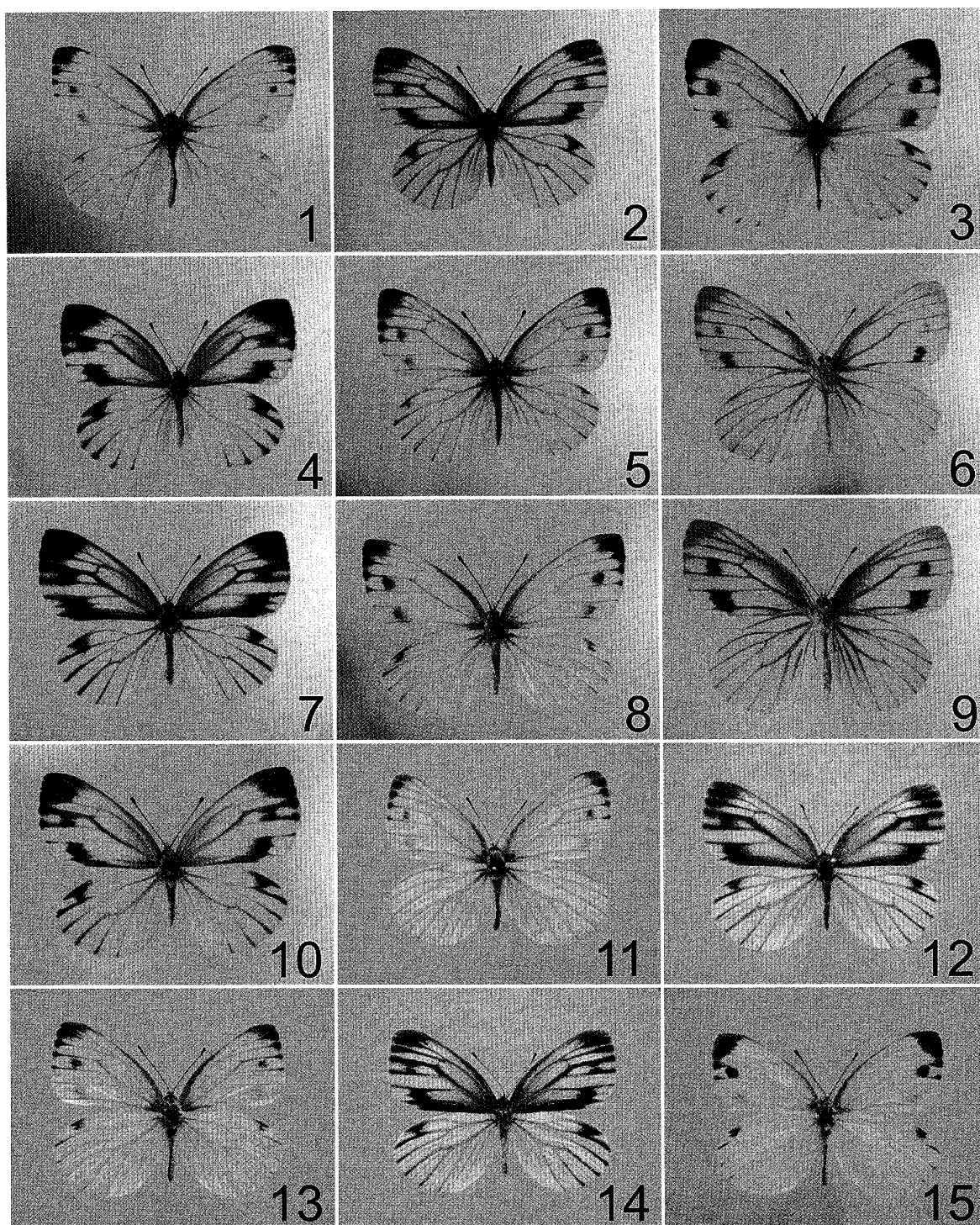
図 1–15. ssp. *nesis*, ssp. *japonica* 及び，その交配で得られた F1, F2, F3 成虫の図示.

Figs 1–15. Photos presentation of adults of *Pieris napi nesis*, *P. napi japonica* and F1, F2, F3 adults crossing between *Pieris napi nesis* and *P. napi japonica*. Fig. 1: ssp. *nesis* ♂. Fig. 2: ssp. *nesis* ♀. Fig. 3: ssp. *japonica* ♂. Fig. 4: ssp. *japonica* ♀. Fig. 5: b♂ (F1). Fig. 6: b♂ (F1) underside. Fig. 7: b♀ (F1). Fig. 8: e♂ (F1). Fig. 9: e♂ (F1) underside. Fig. 10: e♀ (F1). Fig. 11: g♂ (F2). Fig. 12: g♀ (F2). Fig. 13: h♂ (F1). Fig. 14. h♀ (F2). Fig. 15: l♂ (F3).
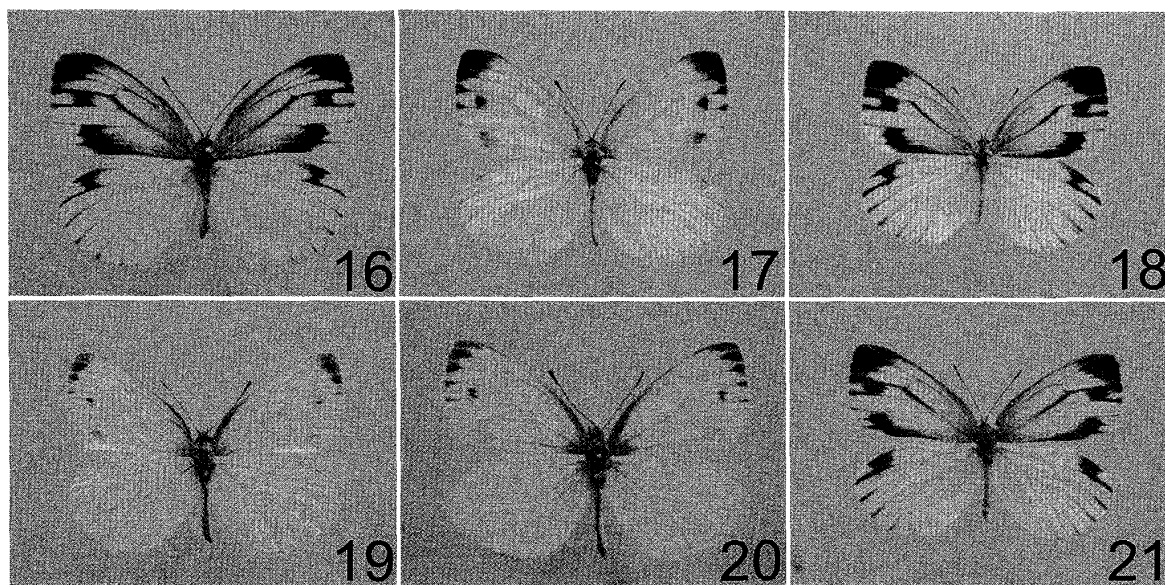
図 16–21. ssp. *nesis* と ssp. *japonica* との交配及び戻し交配で得られたF3, F4成虫の図示.
Figs16–21. Photos presentation of adults of F3, F4 acquired from crossing and backcross between *Pieris napi nesis* and *P. napi japonica*. Fig. 16: m♀ (F3). Fig. 17: q♂ (F3). Fig. 18: r♀ (F3). Fig. 19: t♂ (F3). Fig. 20: u♂ (F4). Fig. 21: v♀ (F4).

組合せにより若干成育期間に差はあるものの，F1幼虫も順調に成育する．また，羽化したF1は，給餌が良好なら充分な大きさとなり，羽化失敗もほとんどなく♂♀の比率が偏ることもなかった．なお，エゾスジは日高町と北見市の2産地の個体を用いたが，交配結果に差は認められなかった．なお，得られたF1成虫には，交配実験で由来する両親の組合せを簡便にあらわす為，表1中に羽化記号を示し，以降この羽化記号で供試虫の両親の組合せを示す．この記号はF2以降の交配試験をした表2～表4でも同様である．

(2) F1の交配の組合せと戻し交配 (Table 2, Figs 11–13)

得られたF1は，再びケージペアリングで，ア) F1同士の交配，イ) F1♀とエゾスジあるいはヤマトスジとの戻し交配，ウ) F1♂とエゾスジあるいはヤマトスジとの戻し交配を行い，生殖能力を調べた．なお，羽化記号の前に記した( )は，F1の両親の組合せ，組数は交尾を確認したカップル数を示している．

ア) F1♂♀同士の組合せでケージペアリングを行い，計21組を交配した．

(ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀) a (F1)♂×(ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀) a (F1)♀: 2組.
(ヤマトスジ♂×エゾスジ北見♀) b (F1)♂×(ヤマトスジ♂×エゾスジ北見♀) b (F1)♀: 15組.
(エゾスジ日高♂×ヤマトスジ♀) d (F1)♂×(エゾスジ日高♂×ヤマトスジ♀) d (F1)♀: 2組.
(エゾスジ日高♂×ヤマトスジ♀) d (F1)♂×(ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀) a (F1)♀: 2組.

F1♂♀同士の交配の結果は，双方の♂♀を入れ替えても，F1♀はまったく産卵しないか未受精卵しか産まなかった．多くの♀は，交尾終了後に食草を入れたケージに入れると，食草の葉上を歩き，尻を強く曲げて産卵体制をとるが，ほとんどの♀は産卵しなかった．F1同士の21組の交配で，産卵を確認したのは以下の1組だった．すなわち，(ヤマトスジ♂×エゾスジ北見♀) b (F1)♂×ヤマトスジ♂×エゾスジ北見♀) b (F1) ♀の組合せによる，15♀のうちの1♀が24卵を産んだ．ただし，この24卵はすべて孵化しなかった．

またF1♀とF1♂の，それぞれの生殖能力を調べるため，ケージペアリングで戻し交配を，以下の組合せで行った．

表1. ヤマトスジとエゾスジの交配.
Table 1. Intersubspecific crossing between *Pieris napi japonica* and *P. n. nesis*.

Exp. No.	Origin of parent[1) ♂	Origin of parent[1) ♀	no.of pairs	No. of survival offsprimgs[2) Egg	neonate larva	adult	Symbols for crossing offspring[3)	Experimental condition[4)
(*P. n. japonica* ♂ × *P. n. nesis* ♀)								
①.	Nagano	Hidaka	1	> 30	> 30	> 30	a (F1)	2008.6.14 (HK)
②.	Nagano	Kitami	14	> 30	> 30	> 30	b (F1)	2008.10.8～11 (SK)
③.	Nagano	Hidaka	3	> 30	> 30	> 30	c (F1)	2009.3.15 (HK)
(*P. n. nesis* ♂ × *P. n. japonica* ♀)								
④.	Hidaka	Nagano	1	> 30	> 30	> 30	d (F1)	2008.6.28 (HK)
⑤.	Kitami	Nagano	7	> 30	> 30	> 30	e (F1)	2008.10.8～11 (SK)
⑥.	Hidaka	Nagano	3	> 30	> 30	> 30	f (F1)	2009.3.15～16 (HK)

表2. F1の交配の組合せと戻し交配.
Table 2. Combination of crossing between F1 and backcross between F1 and *Pieris napi japonica* or *P. n. nesis*.

Exp. No.	Origin of parent[1) ♂	Origin of parent[1) ♀	no.of pairs	No. of survival offsprimgs[2) Egg	neonate larva	adult	Symbols for crossing offspring[3)	Experimental condition[4)
ア) (F1 ♂ × F1 ♀)								
①.	a (F1)	a (F1)	2	0	0	0		2008.7.11 (HK)
②.	b (F1)	b (F1)	15	24	0	0		2008.11.6～8 (SK)
③.	d (F1)	d (F1)	2	0	0	0		2008.7.25 (HK)
④.	d (F1)	a (F1)	2	0	0	0		2008.7.25 (HK)
イ) (Backcross: *Pieris napi nesis* ♂ or *P. n. japonica* ♂ × F1 ♀)								
⑤.	Nagano	a (F1)	1	0	0	0		2008.8.1 (HK)
⑥.	Nagano	c (F1)	3	0	0	0		2009.7.1 (HK)
⑦.	Hidaka	d (F1)	2	5	0	0		2008.8.1 (HK)
⑧.	Hidaka	a (F1)	3	0	0	0		2008.10.18 (HK)
ウ) (Backcross: F1 ♂ × *Pieris napi nesis* ♀ or *P. n. japonica* ♀)								
⑨.	c (F1)	Hidaka	2	> 30	> 30	> 30	g (F2)	2009.5.8 (HK)
⑩.	f (F1)	Hidaka	1	> 30	> 30	> 30	h (F2)	2009.5.8 (HK)
⑪.	c (F1)	Nagano	1	> 30	> 30	> 30	I (F2)	2009.8.31 (HK)
⑫.	c (F1)	Hidaka	3	> 30	> 30	> 30	j (F2)	2009.10.1 8 (HK)

表3. F2の交配の組合せと戻し交配.
Table 3. Combination of crossing between F2 and backcross between F2 and *Pieris napi japonica* or *P. n. nesis*.

Exp. No.	Origin of parent[1) ♂	Origin of parent[1) ♀	no.of pairs	No. of survival offsprimgs[2) Egg	neonate larva	adult	Symbols for crossing offspring[3)	Experimental condition[4)
エ) (F2 ♂ × F2 ♀)								
①.	g (F2)	g (F2)	2	> 30	> 30	> 30	k (F3)	2009.6.28 (HK)
②.	h (F2)	g (F2)	1	> 30	> 30	> 30	l (F3)	2009.6.28 (HK)
③.	h (F2)	h (F2)	1	> 30	> 30	> 30	m (F3)	2009.7.1 (HK)
オ) (Backcross: *Pieris napi nesis* ♂ or *P. n. japonica* ♂ × F2 ♀)								
④.	Hidaka	g (F2)	1	> 30	24	9 ♂ 12 ♀	n (F3)	2009.7.1 (HK)
⑤.	Hidaka	h (F2)	2	> 30	> 30	> 30	o (F3)	2009.7.1 (HK)
⑥.	Nagano	g (F2)	2	> 30	13	5 ♂ 3 ♀	p (F3)	2009.6.28 (HK)
⑦.	Nagano	h (F2)	2	0	0	0		2009.6.28 (HK)
カ) (Backcross: F2 ♂ × *Pieris napi nesis* ♀ or *P. n. japonica* ♀)								
⑧.	g (F2)	Nagano	2	> 30	> 30	> 30	q (F3)	2009.6.28 (HK)
⑨.	h (F2)	Nagano	3	> 30	> 30	> 30	r (F3)	2009.6.28 (HK)
⑩.	g (F2)	Hidaka	2	> 30	22	8 ♂ 11 ♀	s (F3)	2009.6.28 (HK)
⑪.	h (F2)	Hidaka	4	> 30	> 30	11 ♂ 17 ♀	t (F3)	2009.6.28 (HK)

表4. F3の交配の組合せ.
Table 4. Conbination of crossing between F3.

Exp. No.	Origin of parent[1) ♂	Origin of parent[1) ♀	no.of pairs	No. of survival offsprimgs[2) Egg	neonate larva	adult	Symbols for crossing offspring[3)	Experimental condition[4)
キ) (F3 ♂ × F3 ♀)								
①.	o (F3)	o (F3)	2	> 30	> 30	> 30	u (F4)	2009.7.28 (HK)
②.	s (F3)	s (F3)	2	> 30	> 30	> 30	v (F4)	2009.7.28 (HK)

[1) Sampling localities. "Nagano": Ina City, Nagano, Honshu. "Hidaka": Hidaka Town, Hokkaido. "Kitami": Kitami City, Hokkaido.
[2) Over 30 individuals (or 30eggs) regarded as same results, or enough offsprings survival.
[3) Symbols assigned here corresponds in tables and figures.
[4) Experimental date (Experimenter); HK: Hikaru Kitahara, SK: Satoshi Kuroda.

イ）F1♀とエゾスジ♂あるいはヤマトスジ♂との戻し交配の組合せで，ケージペアリングを行い，次の計9組を交配した．

ヤマトスジ♂×（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）a（F1）♀またはc（F1）♀：4組．（1組+3組）
エゾスジ日高♂×（エゾスジ日高♂×ヤマトスジ♀）d（F1）♀：2組．
エゾスジ日高♂×（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）a（F1）♀：3組．

F1♀の戻し交配の結果，F1♀はまったく産卵しないか，未受精卵しか生まなかった。戻し交配したF1♀9個体のうち，産卵したのはエゾスジ日高♂×（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）F1♀の組合せ5♀の内の1♀だった．このd（F1）♀のうちの1個体は5卵を産んだがいずれも孵化しなかった．また以上の実験とは別に，野外採集の北海道芦別市産♂と（ヤマトスジ♂×エゾスジ北見市産♀）b（F1）♀とで戻し交配を行い1組が交尾したが，このF1♀もやはり産卵をしなかった．

以上，ア）とイ）の交配結果から，F1♀は生殖能力を持たないと判断された．F1♀は組合せに関わらず，交配を行ったF1♀30個体のうち，未受精卵を産んだ2♀以外の28♀は，いずれも産卵しなかった．この産卵しなかった28個体のF1♀は，大半が産卵体制をとり，時には腹端から白い体液を出す場合もあるが，まったく産卵はしなかった．また，ヤマトスジ♂×エゾスジ北見♀の交配から得たb（F1）♀のうち，15♀の腹部を解剖した結果，いずれも卵が形成されていなかった．

ウ）F1♂とエゾスジ♀あるいはヤマトスジ♀との戻し交配の組合せで，ケージペアリングを行い，以下の計7組を交配した．

（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）c（F1）♂×エゾスジ日高♀：5組．（2組+3組）
（エゾスジ日高♂×ヤマトスジ♀）f（F1）♂×エゾスジ日高♀：1組．
（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）c（F1）♂×ヤマトスジ♀：1組．

F1♂と交配したエゾスジ♀やヤマト♀との戻し交配では，いずれも多数の有精卵が得られた．たとえば，2009年5月8日に（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）c（F1）♂×エゾスジ日高♀が2組，（エゾスジ日高♂×ヤマトスジ♀）f（F1）♂×エゾスジ日高♀が1組の計3組では，どちらの組合せでも多数の産卵があり，大半の卵から幼虫が孵化し，多くのF2成虫が得られた．再確認のため，2009年8月31日に（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）c（F1）♂×ヤマトスジ♀の1組と，2009年10月18日に（ヤマトスジ♂×エゾスジ日高♀）c（F1）♂×エゾスジ日高♀の3組の，計4組の追加交配を行った．この結果も同様に，多数の卵から多くのF2幼虫が孵化した．孵化したF2幼虫は，おそらく合計500個体以上いたが，食草等の都合により，個体数を調整して飼育をおこなった．

以上の結果から，エゾスジとヤマトスジから得られたF1♂は，親の組合せに関わらず，いずれも生殖能力を持つことが判明した．F1♂との戻し交配で得られた卵は，7組とも順調に孵化成育し多数のF2成虫を得たが，羽化した成虫は♂♀の比率が偏ることがなく，十分な大きさであった．たとえば，2009年5月8日に交配した3組からは30♂44♀が羽化し，2009年10月18日に交配した3組からは，46♂56♀が羽化した．

なお，エゾスジは日高町産と北見市産を用いたが，交配結果に差は認められなかった．

(3) F2の交配の組合せと戻し交配（Table 3, Figs 15–19）

ア）〜ウ）のうち，ウ）のF1♂との戻し交配で得られたF2は，さらにケージペアリングを行い，エ）F2同士の交配，オ）F2♀とエゾスジ♂あるいはヤマトスジ♂との戻し交配，カ）F2♂とエゾスジ♀あるいはヤマトスジ♀との戻し交配を行い，F2の生殖能力を調べた．組合せは以下のとおりである．羽化記号の前に記した（ ）は，F2の両親の組合せ，組数は交尾を確認したカップル数を示している．なお，用いたエゾスジはすべて日高町産である．

エ）F2♂♀同士の組合せでケージペアリングを行い，計5組を交配した．

（（ヤマトスジ♂×エゾスジ♀）F1♂×エゾスジ♀）g（F2）♂ ×（（ヤマトスジ♂×エゾスジ♀）F1♂×エゾスジ♀）g（F2）♀：2組．
（（エゾスジ♂×ヤマトスジ♀）F1♂×エゾスジ♀）h（F2）♂×（（ヤマトスジ♂×エゾスジ♀）F1♂×エゾスジ♀）g（F2）♀：2組．
（（エゾスジ♂×ヤマトスジ♀）F1♂×エゾスジ♀）h（F2）♂×（（エゾスジ♂×ヤマトスジ♀）F1♂×エ

ゾスジ♀) h (F2) ♀ : 1 組.

F2 ♂♀同士の交配の結果，5 組の交配から多数の有精卵がえられた．孵化も成育も順調に行われた。羽化した成虫の性比も偏りがなかった.

またF2 ♀とF2 ♂の，それぞれの生殖能力を調べるため，ケージペアリングで戻し交配を以下の組合せで行った.

オ) F2 ♀とエゾスジ♂あるいはヤマトスジ♂との戻し交配の組合せで，ケージペアリングを行い，計 7 組を交配した.

エゾスジ♂ × ((ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) g (F2) ♀ : 1 組.
エゾスジ♂ × ((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) h (F2) ♀ : 2 組.
ヤマトスジ♂ × ((ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) g (F2) ♀ : 2 組.
ヤマトスジ♂ × ((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) h (F2) ♀ : 2 組.

エゾスジ♂と戻し交配を行った 3 個体のF2 ♀からは，多数の有精卵が得られた．孵化や成育も順調に行われ，多数のF3 ♂♀が羽化した．一方，ヤマトスジ♂と戻し交配を行った 4 組中，2 個体のF2 ♀が産卵しなかった．これは，F2 同士の交配で，多数のF3 が得られた点を考慮すると，F2 ♀の生殖能力に問題があるのではなく，夏期の飼育のため母蝶の健康状態が悪く，高温多湿などの原因で産卵しなかったと考えられた.

カ) F2 ♂とエゾスジ♀あるいはヤマトスジ♀との戻し交配の組合せで，ケージペアリングを行い，計 11 組を交配した.

((ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀)) g (F2) ♂ × ヤマトスジ♀ : 2 組.
((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀)) h (F2) ♂ × ヤマトスジ♀ : 3 組.
((ヤマトスジ♂ × エゾスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀)) g (F2) ♂ × エゾスジ♀ : 2 組.
((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀)) h (F2) ♂ × エゾスジ♀ : 4 組.

F2 ♂との戻し交配の結果は，組合せに関わらず，F2 ♂と戻し交配をした 11 個体の♀からは，多数の有精卵が得られた。各組合せの個体数が30個体程度になるように，孵化した幼虫を調整したところ，F2 ♂との戻し交配では，合計 53 ♂ 59 ♀のF3 が羽化した.

以上のエ)～カ)をまとめると，F 2 ♂♀は一部を除いて，どの組合せでも生殖能力を有し，得られた卵は支障なく成長し，多数のF3 成虫が羽化した．羽化したF3 成虫は，♂♀の比率が偏ることがなかった．一部の交配ではF2 ♀が産卵しなかったが，これは夏期の飼育による高温多湿が影響したと考えられた.

(4) F3 の交配の組合せ (Table 4, Figs 20–21)

エ)～カ)のうち，戻し交配などで得られたF3 は，さらにケージペアリングを行い，キ) F3 同士の交配を行いF3 の生殖能力を調べた．組合せは，以下のとおりである．羽化記号の前に記した (　) は，F3 の両親の組合せ，組数は交尾を確認したカップル数を示している.

なお，用いたエゾスジはすべて日高町産である.

キ) F3 ♂♀同士の組合せでケージペアリングを行い，計 4 組を交配した.

((エゾスジ♂ × ((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1♂ × エゾスジ♀) F2 ♀) o (F3) ♂ × (エゾスジ♂ × ((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) F2 ♀) o (F3) ♀が 2 組.
((((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) F2 ♂×エゾスジ♀) s (F3) ♂ × (((エゾスジ♂ × ヤマトスジ♀) F1 ♂ × エゾスジ♀) F2 ♂ × エゾスジ♀) s (F3) ♀が 2 組.

F3 の生殖能力については，組合せが多数になるため一部のみ行ったが，いずれの組合せにおいても♂♀とも生殖能力が認められ，F4 は支障なく成虫まで成育した．また羽化したF4 成虫に，形態の異常や性比の偏りはまったく認められなかった.

(1)～(4) の結果をまとめると，以下の通りである (Fig. 22).
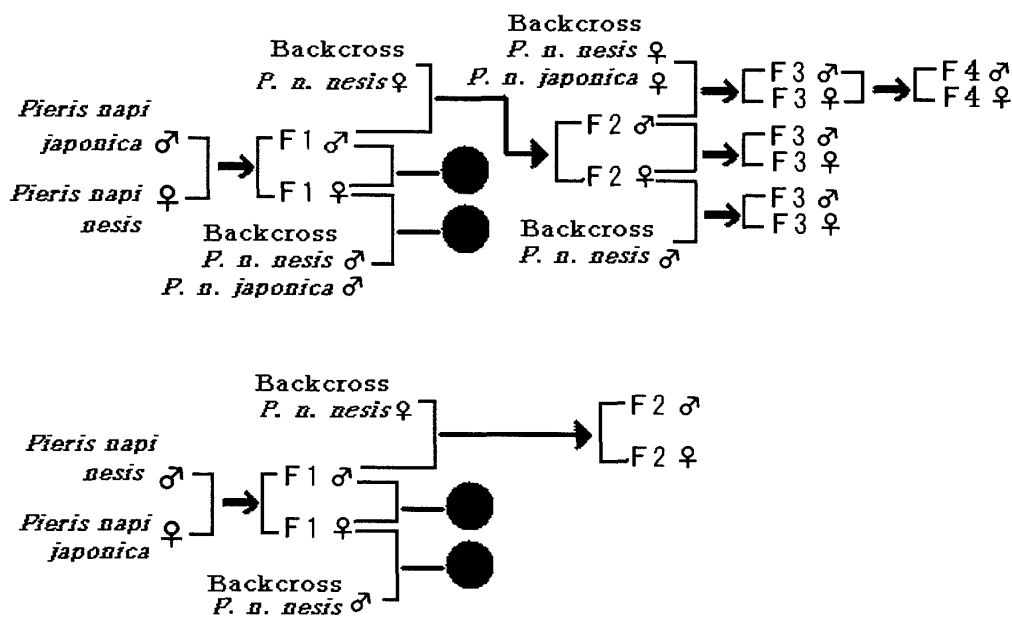
図22. エゾスジとヤマトスジの交配の組合せとその結果
(→は有精卵を得た組合せ，●は得られなかった組合せ).
Fig. 22. Combination of crossing between *Pieris napi nesis* and *P. napi japonica*, and its result. Arrows show the combinations in which egg laying was observed following successful artificial pairing. Black circles show the combinations in which egg laying was not observed in spite of successful artificial pairing.

・ヤマトスジとエゾスジ，あるいはそれから得られたF1, F2, F3とも，ケージ内では，すべての組合せで自発的に交尾が行われる．
・組合せに関わらず，F1♂は生殖能力を持つが，F1♀は生殖能力を持たない．
・F2, F3は♂♀とも生殖能力を持つ．

エゾスジとヤマトスジは，F♀は生殖能力を持たないので，交配後生殖的隔離が起きていると考えられる．しかし，両種間ではF1♂を通じて，自集団の核遺伝子を他集団に伝達でき，またF2以降は同種と同じで，生殖的隔離が起きていない．換言すれば，生殖的隔離はF1♀だけとなる．すなわち，エゾスジとヤマトスジの関係は，現段階では別種と判断されるが，種分化が不完全な半種状態にあると考えられる．

半種状態という点では，北原(2009)の報告した，スジグロシロチョウとヤマトスジの関係とやや似ている．すなわち，ヤマトスジとスジグロシロチョウとのハンドペアリングによる交配実験で，両種間のF1♂，F2♂に生殖能力を認めたが，F1♀～F3♀には，生殖能力がないことを確認している．この交配実験では，本実験と，ほぼ同様の手法や器具を使ったが、ケージペアリングでは成功しなかったことや，F2♀，F3♀は生殖能力を有しないことなどが，エゾスジとヤマトスジの関係と異なる．これらの点を考慮すると，エゾスジとヤマトスジの関係は，ヤマトスジとスジグロシロチョウの関係以上に，きわめて近縁であると判断される．

エゾスジとヤマトスジの関係は，生物種が2種に種分化する際の，ごく初期の段階と考えられ，地理的隔離が，もう少し長期間続けばより確立された別種となり，地理的隔離が解消されれば，やがて同種になると推定される．両種の関係は，ある生物種がどのように種分化していくのかを，解明するための研究材料として，極めて注目される．

エゾスジとヤマトスジの分布域に関しては，交配前生殖隔離が無いとしたら，ケージペアリングで簡単に交尾することや，F1♂やF2♂♀，F3♂♀に生殖能力があることなどから，両種が，隔てられることなく広い範囲で混棲した場合，それぞれが独立して，生殖的に隔離された種を維持することは，難しいと推測される．おそらく，津軽海峡が両種の隔離に，大きく関係していると推定される．だが，

青森県津軽半島では、形態面で北海道産と区別できない個体も多い (白水, 2006)との見解もある事から, この地域では, 両種間で遺伝子伝達が行われ, 生殖的隔離が起きていない可能性も考えられる. 今後は, 筆者等が両種の分布境界線と推測する, 津軽海峡を挟んだ地域の野外調査や交配実験を, さらに進めて行くべきであろう.

なお, ミトコンドリアDNA塩基配列解析は, 種の判定にある程度有効であるものの, ミトコンドリアは母系遺伝しかしない. 本実験結果のように, F1♂による核遺伝子の交流が行われた場合は, ミトコンドリアDNAの類似度に反映されないと考える. したがって, その解析結果だけで, 近縁な集団同士を, 種として確定区分できる手段ではないと考えられる. とくに近縁な集団同士では, 生殖的隔離の証明や交配実験をしなければ, 種の独立性を確認できないと考える.

引用文献

北原　曜, 2009. スジグロシロチョウとエゾスジグロシロチョウの種間関係(1) 人工交雑の結果. 蝶と蛾 **60**: 81–91.
黒田　哲, 2008. 北海道産エゾスジグロシロチョウ *Pieris napi* の道南地域 (ヤマトスジグロシロチョウ) と道東地域 (エゾスジグロシロチョウ) の交配結果. やどりが (**217**): 5–10.
黒田　哲, 2010. 北海道産エゾスジグロシロチョウ *Pieris napi* の道南地域 (ヤマトスジグロシロチョウ) と道東地域 (エゾスジグロシロチョウ) の交配結果II. やどりが (**224**): 23–28.
松田真平, 2009. ヤマトスジグロシロチョウとエゾスジグロシロチョウの学名に関する問題. やどりが (**219**): 26–41.
新川　勉・八木隆司・藤井　恒・近藤喜代太郎, 2003. *Pieris* グループの分子系統とその拡大. 蝶類DNA研究会ニュースレター (**10**): 14–17.
白水　隆, 2006. 日本産蝶類標準図鑑. 336 pp. 学習研究社, 東京.
若林守男・川副昭人, 1976. 原色日本蝶類図鑑. 422 pp. 保育社, 大阪.

Summary

In order to make clear the relationship between *Pieris napi nesis* from Hokkaido and *P. napi japonica* from Honshu, a cross-breeding experiment was carried out by the cage pairing method and many F1–F4 adults were obtained. The reproductive ability of F1–F2 generations was tested by backcross experiments. Neither deformity nor abnormal growth of F1–F4 were observed in any stage. The sex ratios of F1–F4 were equal. Only female adults of the F1 generation lacked reproductive ability. These results suggest that the relationship between *Pieris napi nesis* and *P. napi japonica* is correctly established as subspecies.

(Received February18, 2010. Accepted October 12, 2010)

Published by the Lepidopterological Society of Japan,
5-20, Motoyokoyama 2, Hachioji, Tokyo, 192-0063 Japan